

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2002 年 11 月 14 日 (14.11.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/090304 A1(51) 国際特許分類: C07C 41/46,
43/23, 50/28, 46/10, A61K 31/09, 9/107, 9/127, 47/06,
47/24, 47/26, 47/44, A23K 1/16, A23L 1/30, 2/52, A61P
3/02, A23P 9/10, A61P 39/06, 43/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/04516

(22) 国際出願日: 2002 年 5 月 9 日 (09.05.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-138340 2001 年 5 月 9 日 (09.05.2001) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 鐘淵化
学工業株式会社 (KANEKA CORPORATION) [JP/JP];
〒530-8288 大阪府 大阪市 北区中之島 3 丁目 2 番 4 号
Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藤井 健志
(FUJII, Kenji) [JP/JP]; 〒651-1202 兵庫県 神戸市 北区花山中尾台 2 丁目 5-1 1 Hyogo (JP). 川辺 泰
三 (KAWABE, Taizo) [JP/JP]; 〒672-8044 兵庫県 姫
路市 飾磨区下野田 1 丁目 7-2 0 3 Hyogo (JP). 細
江 和典 (HOSOE, Kazunori) [JP/JP]; 〒676-0025 兵庫
県 高砂市 西畑 3 丁目 8-1 7 Hyogo (JP). 日高 隆義
(HIDAKA, Takayoshi) [JP/JP]; 〒655-0006 兵庫県 神戸
市 垂水区本多聞 2 丁目 2 1-8 Hyogo (JP).(74) 代理人: 安富 康男, 外 (YASUTOMI, Yasuo et al.); 〒
532-0011 大阪府 大阪市 淀川区西中島 5 丁目 4 番
2 0 号 中央ビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AU, CA, CN, IN, KR, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受
領の際には再公開される。2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: STABLE SOLUTION OF REDUCED COENZYME Q

(54) 発明の名称: 還元型補酵素 Q の安定な溶液

(57) Abstract: By maintaining reduced coenzyme Q, which has not been employed in practice so far because of being liable to undergo oxidation and hydrophobic, stable against oxidation, a composition of a practically usable solution of reduced coenzyme Q, a method of preparing the same and a method of storing the same are provided. A solution of reduced coenzyme Q which can be stored at a low temperature or room temperature over a long time can be prepared by coating reduced coenzyme Q with liposomes made of refined soybean lecithin, etc. and solubilizing, or solubilizing or emulsifying reduced coenzyme Q by using a surfactant at a low concentration.

(57) 要約:

酸化を受けやすいことと疎水性であることにより実用に供されてこなかった還元型補酵素 Q について、酸化に対して安定に維持できることにより、実用が可能である溶液の組成、作製方法および保存方法を提供する。

還元型補酵素 Q を精製大豆レシチンなどからなるリポソームで被覆し可溶化すること、あるいは還元型補酵素 Q を低濃度の界面活性剤を用いて可溶化あるいは乳化した溶液を作製することにより、冷蔵あるいは室温にて長期間保存できる還元型補酵素 Q の溶液を作製できる。

WO 02/090304 A1

明細書

還元型補酵素Qの安定な溶液

技術分野

- 5 本発明は、還元型補酵素Qを構成成分とする溶液に関し、特に還元型補酵素Qを酸化に対して安定に維持できる溶液に関する。

背景技術

- 補酵素Qは、細菌から哺乳動物まで広く生体に分布する必須成分であり、生体内の細胞中におけるミトコンドリアの電子伝達系構成成分として知られている。
10 補酵素Qは、ミトコンドリア内において酸化と還元を繰り返すことで、電子伝達系における伝達成分としての機能を担っているほか、還元型補酵素Qは抗酸化作用をもつことが知られている。ヒトでは、補酵素Qの側鎖が繰り返し構造を10個持つ、補酵素Q₁₀が主成分であり、生体内においては通常40～90%程度
15 が還元型で存在している。補酵素Qの生理的作用としては、ミトコンドリア賦活作用によるエネルギー生産の活性化、心機能の活性化、細胞膜の安定化効果、抗酸化作用による細胞の保護効果などが挙げられている。

- 補酵素Qは種々の用途での使用が知られており、例えば、酸化型補酵素Q₁₀はその心臓に対する効果から鬱血性心不全薬として用いられている。医薬用途以外でも、ビタミン類同様、栄養剤、栄養補助剤として経口的に使用されている。
20 しかし、補酵素Qは脂溶性が強く水に溶けにくいいため、実際の用途は経口剤および皮膚用剤のみしか知られていなかった。

- 近年、血中の酸化ストレスの増加による疾患の増悪が種々報告されるようになった。代表的なものとして、動脈硬化、糖尿病合併症などが挙げられる。これらの疾患では、血液中に存在する種々の酸化ストレスによる脂質変性などにより、
25 疾患の発生あるいは増悪が起こっている。このような酸化ストレスによる影響を減少させるためには抗酸化剤の投与による抗酸化能の賦活が有効である。脂質過酸化の抑制により有効であると考えられる脂溶性の抗酸化物質の代表的な化合物であるビタミンEは抗酸化物質として疾患の予防などに幅広く用いられている。

近年、ビタミンEの抗酸化活性を十分に発揮させるためには還元型補酵素Q₁₀の共存が重要であることが報告され（Bowry等、1993、J. American Chemical Society、115、6029-6044）、脂溶性抗酸化物質としてビタミンEと共に、補酵素Qの重要性が明らかになりつつある。

還元型補酵素Qはそれ自身で強い抗酸化作用を持つため、可溶化して血中に充分量の還元型補酵素Qを送り込むことにより、血中の抗酸化活性を効果的に増加させることができる。血中の抗酸化活性を増加させることにより、虚血再還流時の血管障害、動脈硬化の再狭窄防止、脳梗塞後の血管障害の防止、動脈効果の予防、糖尿病の合併症の予防など、活性酸素種によって増悪が示唆されている多くの疾患への効果が期待できる。更に、還元型補酵素Qの新たな補給形態として、点滴による体内への送達が可能となり、経口による還元型補酵素Qの摂取ができない重症患者あるいは脳疾患患者などでの有用性が期待できる。このように還元型補酵素Qを可溶化することは、人の健康維持のために多くのメリットを生み出すことが期待できる。

酸化型補酵素Q₁₀（ユビデカレノンまたはユビキノン）の可溶化方法に関しては古くから数多くの研究が行われてきた。酸化型補酵素Q₁₀の可溶化方法としては、リポソームによる被覆、界面活性剤あるいは油脂による懸濁など種々の方法が報告されている（特開平5-186340号公報、特開平7-69874号公報、特表2000-510841号公報）が、実用に供された例はない。その理由のひとつとして、酸化型補酵素Q₁₀が抗酸化活性を示すためには還元酵素などによって還元型に変換される必要があるが、血中には還元酵素が存在しないため注射などによる投与では血中の還元型補酵素Q₁₀量を増加させることができないため、抗酸化活性の増加による血中の酸化ストレスの低下が期待できないことが挙げられる。一方、還元型補酵素Q₁₀はそれ自体が抗酸化活性を有することから、上記のような疾患に対する有用性が大いに期待できる物質ではあるが、酸化を受けやすく不安定であるため実用には供しえなかった。還元型補酵素Q₁₀のリポソーム被覆体を酸化還元酵素などの研究のために作製したという研究報告はあるが（Kishi等、1999、BioFactors、10、13

1-138)、用いられているリポソームは使用時毎の用時調製例しかなく、還元型補酵素Qを安定的に維持できる可溶化方法については全く知られていなかった。

5 発明の要約

本発明は、還元型補酵素Qを酸化に対して安定に維持できる水溶液を提供することを目的とするものである。

本発明者等は上記の課題を克服するために研究を行った結果、還元型補酵素Qを酸化に対して安定に維持するために適した溶液の組成を見出し、本発明を完成するに至った。

即ち本発明は、還元型補酵素Qを含有する補酵素Qの溶液であって、補酵素Qをリポソームで被覆するか、又は、界面活性剤により可溶化若しくは乳化することによって還元型補酵素Qを酸化に対して安定に維持する、補酵素Qの溶液である。

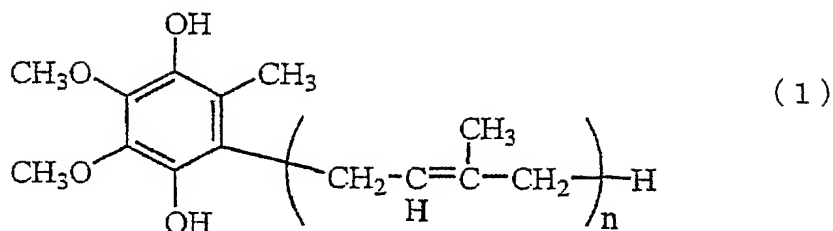
15 本発明の溶液は、医療品、食品、食品用組成物、飲料、肥料、化粧品、飼料、または、抗酸化剤に用いることができる。医療品として、具体的には、注射剤、補液、液剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、経口剤、皮膚用剤、頭皮用剤、または、保存溶液に用いることができる。これらの医療品は、ヒトのほか、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ等の動物に用いることができる。

20 また本発明は、還元型補酵素Qをリン脂質及び／又は糖脂質から調製されるリポソームで被覆することからなる、還元型補酵素Qの安定化方法でもある。

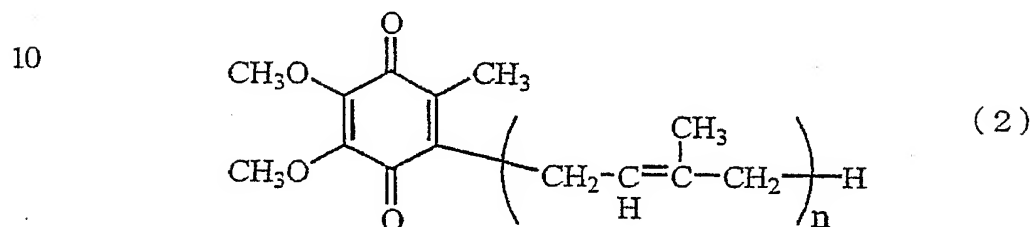
発明の詳細な開示

以下に本発明を詳述する。

25 補酵素Qは、下記式(1)；



(式中、n は 1 ～ 12 の整数を表す) および下記式 (2) ;



15 (式中、n は 1 ～ 12 の整数を表す) で表され、式 (1) は還元型補酵素Qを表し、式 (2) は酸化型補酵素Qを表す。

本発明で用いる補酵素Qは、式 (1) で表される還元型補酵素Qを含有し、補酵素Q全量中の還元型補酵素Q量の好ましい量の下限は20重量%であり、更に好ましい量の下限は40重量%である。上限は100重量%以下であればよく、
 20 好ましくは100重量%未満であり、より好ましくは98重量%以下である。補酵素Q中の還元型補酵素Qの割合については、我々は、還元型補酵素Q₁₀を用いた経口組成物の投与による血中補酵素Q₁₀の増加効果は、還元型補酵素Q₁₀が20重量%以上含有された場合にみられ、40重量%以上含有された場合により強くなることを見出している (特開平10-109933号公報)。

25 上記還元型補酵素Qを得る方法としては特に限定されず、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素Qを得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の還元型補酵素Q区分を濃縮する方法などを採用することが出来る。この場合には、必要に応じて上記補酵素Qに対し、水素化ほう素ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム (ヒドロサルファイトナトリウム) 等の一般的な

還元剤を添加し、常法により上記補酵素Q中に含まれる酸化型補酵素Qを還元して還元型補酵素Qとした後にクロマトグラフィーによる濃縮を行っても良い。また、既存の高純度補酵素Qに上記還元剤を作用させる方法によっても得ることが出来る。

- 5 本発明で利用できる補酵素Qは、前記式(1)および(2)で表されるように、側鎖の繰り返し単位(式中n)が1~12のものを使用することが出来るが、なかでも側鎖繰り返し単位が10のもの、すなわち補酵素Q₁₀が特に好適に使用できる。

- 10 本発明の溶液を得る方法としては特に限定されず、例えば、還元型補酵素Qを含有する補酵素Qを、適当な基剤を用いてリポソームで被覆し可溶化することにより得ることができる。あるいは、適当な界面活性剤によって可溶化もしくは乳化することによっても得ることができる。

リポソームの基剤として用いる脂質としては、リン脂質、糖脂質が好適に使用できる。

- 15 リン脂質としては、卵黄レシチン、精製大豆レシチン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、スフィンゴミエリン、ジセチルリン酸、ステアシルアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジルイノシトールアミン、カルジオリピン、セラミドホスホリルエタノールアミン、セラミドホスホリルグリセロール、およびこれらの混合物等
- 20 物等の物質が使用できるが、ホスファチジルコリン含量が高いものが好ましく、精製大豆レシチンがより好適である。精製大豆レシチン中のホスファチジルコリン含量としては、0.01重量%以上が好ましく、0.1重量%以上がより好ましい。

- 25 糖脂質としてはジガラクトシルジグリセリド、ガラクトシルジグリセリド硫酸エステル、ガラクトシルセラミド、ガラクトシルセラミド硫酸エステル、ラクトシルセラミド、ガングリオシドG7、ガングリオシドG6、ガングリオシドG4、ジガラクトシルセラミド、およびこれらの混合物を用いることができる。

補酵素Qとリン脂質または糖脂質の組成比については、補酵素Qの1モルに対して、通常、リン脂質または糖脂質が1モル以上存在すればよいが、10モル以

上存在するのがより好ましい。

5 なお、基剤にステロールを添加してもよい。添加量は、リン脂質あるいは糖脂質に対して1／5重量が好ましい量の上限であり、1／10重量が更に好ましい。ステロールとしては、コレステロールが最も好ましいが、その他のステロールを使用してもよい。

10 本発明の溶液における補酵素Qの含有量としては、溶液の用途にもよるが、好ましい量の下限は0.0001重量%であり、好ましい上限は50重量%である。より好ましい量の下限は0.001重量%であり、より好ましい量の上限は30重量%、さらに好ましい量の下限は0.01重量%、さらに好ましい量の上限は15重量%である。

15 リポソームによる被覆は当業者周知の方法で行うことができ、例えば、クロロホルム、エタノール等の溶媒に溶解させた還元型補酵素Qとリン脂質の混合物を、溶媒を蒸発乾固させた後、適当な緩衝液中で超音波処理等によって分散させることにより調製することができる。上記操作は、一般的には、還元型補酵素Qおよび脂質の酸化を抑えるため、窒素等の不活性ガス雰囲気下に低温（例えば4℃）で行うのが好ましい。

次に、界面活性剤を用いた可溶化もしくは乳化について説明する。

20 界面活性剤は、一般に用いられている製品を使用することができる。例えば界面活性剤としては、カルボン酸塩型アニオン界面活性剤、スルホン酸塩型アニオン界面活性剤、硫酸エステル塩型アニオン界面活性剤、リン酸エステル塩型アニオン界面活性剤等のアニオン界面活性剤；アミン塩型カチオン界面活性剤、四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤等のカチオン界面活性剤；アミノカルボン酸塩型両性界面活性剤、カルボキシベタイン型両性界面活性剤、硫酸エステル型両性界面活性剤、スルホン酸型両性界面活性剤等の両性界面活性剤；エーテル型非イオン界面活性剤、エーテルエステル型非イオン界面活性剤、エステル型非イオン界面活性剤、ブロックポリマー型非イオン界面活性剤、含窒素非イオン界面活性剤等の非イオン界面活性剤；天然界面活性剤、タンパク質加水分解物の誘導体である界面活性剤、高分子界面活性剤、チタン及びケイ素を含む界面活性剤、フッ化炭素系界面活性剤等のその他の界面活性剤などを用いることができる。

界面活性剤として、好ましくは非イオン界面活性剤であり、より好ましくは、T w e e n 8 0等のポリソルベート系界面活性剤やH C O 6 0等のポリオキシエチレン硬化ヒマシ油である。

本発明の溶液における上記界面活性剤の濃度は、通常、0. 0 1 ~ 2 0 重量
5 %であり、還元型補酵素Qの酸化防止の観点からは1 重量%未満が好ましく、0. 1 重量%以下がさらに好ましい。但し、界面活性剤溶液と還元型補酵素Q₁₀粉末を別個にパックし、溶液を用事調製して使用するなど保存による酸化を考慮しなくてよい場合、また、保存期間が非常に短期間である場合、あるいは気密容器中で脱酸素剤などを共存させて無酸素条件での保存を行う場合などでは、1 重量
10 %以上の界面活性剤による溶液或いは乳化液の作製は可能である。補酵素Qの含有量は、先述のリポソームによる被覆の場合と同様である。

上記のようにして調製される溶液には、更に、薬剤学的に許容されている他の製剤素材を常法により適宜添加混合してもよい。添加しうる製剤素材としては特に限定されず、例えば、乳化剤、緊張化剤、緩衝剤、溶解補助剤、矯臭剤、防腐
15 剤、安定化剤、抗酸化剤などが挙げられる。

本発明による溶液組成物の保存方法としては、特に限定されず、低温保存、密閉容器による嫌氣的保存、遮光保存など通常行われている方法を用いることができる。

上記のようにして調製される本発明の溶液は、冷蔵あるいは室温で保存した
20 際に、還元型補酵素Qを酸化に対して安定に維持することができる。ここでいう「安定に維持できる」とは、溶液の用途と目的によっても異なるが、例えば、還元型補酵素Qの残存率が保存開始時の濃度の8 0 %以上であることを表す。この割合を維持できる期間としては、1 週間以上が好ましく、更に好ましくは1 ヶ月以上、もっとも好ましくは1 年間以上である。

25 本発明による還元型補酵素Qを含有する溶液は、医療用、化粧用、食品用、園芸用、酪農用など広い範囲で使用できる。具体的な形態としては注射剤、輸液、液剤、点眼剤、内服用液剤、ローション剤、ヘヤートニック、化粧用乳液、スプレー液、エアロゾル、ドリンク液、液体肥料、保存用溶液などが挙げられ、医療用としては更に臓器移植時の保存用溶液などとして用いることも出来る。更に、

上記の形態は動物、魚介類用として用いてもよく、飼料として用いてもよい。また、抗酸化溶液として肉、魚など生鮮食品の保存用に用いることもできる。

図面の簡単な説明

5 図1は、3種類のレシチンにより作製したリポソーム中の還元型補酵素 Q_{10} の、4℃での酸化安定性を示したグラフである。縦軸は作製時に対する還元型補酵素 Q_{10} の残存率を%で表し、横軸は保存日数を表す。値は $n=2$ の平均値である。

図2は、3種類のレシチンにより作製したリポソーム中の還元型補酵素 Q_{10} の、23℃での酸化安定性を示したグラフである。縦軸は作製時に対する還元型補酵素 Q_{10} の残存率を%で表し、横軸は保存日数を表す。値は $n=2$ の平均値である。

図3は、3種類のレシチンにより作製したリポソーム中の還元型補酵素 Q_{10} の、40℃での酸化安定性を示したグラフである。縦軸は作製時に対する還元型補酵素 Q_{10} の残存率を%で表し、横軸は保存日数を表す。値は $n=2$ の平均値である。

図4は、2種類の界面活性剤による還元型補酵素 Q_{10} 溶液の23℃での酸化安定性に対する界面活性剤濃度の影響を示したグラフである。縦軸は作製時に対する還元型補酵素 Q_{10} の残存量を示し、横軸は保存日数を表す。値は $n=2$ の平均値である。

発明を実施するための最良の状態

以下に実施例及び調製例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例および調製例のみに限定されるものではない。

25

(実施例1) 還元型補酵素 Q_{10} 含有リポソーム中の還元型補酵素 Q_{10} の酸化安定性に対するレシチンの影響

レシチンとして卵黄レシチン(和光純薬工業製)および精製大豆レシチンであるレシノールS10およびレシノールS10EX(日本ケミカルズ製)を用いた。

- レシノールS10はホスファチジルコリン含量が25～30重量%であるのに対し、レシノールS10EXはホスファチジルコリンが95重量%以上の含量である。これらのレシチンを用い、以下のようにして、還元型補酵素Q10含有リポソームを作製した。即ち、補酵素Q10（酸化型：還元型＝5：95（重量比）
- 5)のエタノール溶液（1mg/ml）にレシチンのクロロホルム溶液（3.2mg/ml）を加え、共に溶解させた。エバポレーターにて溶媒を完全に減圧除去した後、HEPES緩衝液（50mM、pH7.4）を加え、振盪することにより脂質フィルムを分散させ乳白色の懸濁液を作製した。窒素気流下、30分間、4℃で超音波処理することでリポソームを作製し、遠心で巨大分子を除去した。
- 10 操作中の還元型補酵素Q10の酸化を防ぐため、これらの操作は出来る限り迅速に行った。

リポソーム中の還元型補酵素Q10の酸化安定性をHPLCにて評価した。

- 作製直後の、0.05%還元型補酵素Q10含有リポソーム中の還元型補酵素Q10の比率は、卵黄レシチンでは約90重量%、精製大豆レシチン（レシノールS10、レシノールS10EX）では約95重量%であり、卵黄レシチンでは
- 15 リポソーム作製時に若干の酸化を受けるが、精製大豆レシチンでは、リポソーム作製時に殆ど酸化を受けないことが判った。

- これらのリポソームを空气中で保存した時の保存温度による還元型補酵素Q10の酸化への影響を調べた。その結果を図1～3に示した。値は、 $n=2$ の平均
- 20 値である。

- 冷蔵条件（4℃）、30日保存では、全てのレシチンで作製したリポソームにおいて、還元型補酵素Q₁₀は90%以上維持されていたが、保存60日後では、レシノールS10およびレシノールS10EXで作製したリポソームでは、還元型補酵素Q₁₀は殆ど酸化されなかったが、卵黄レシチンを用いたリポソームで
- 25 は約25%が酸化を受けていた（図1）。

23℃で保存したリポソームでは、保存30日後では、レシノールS10およびレシノールS10EXで作製したリポソームでは、90%以上が還元型で維持されており、卵黄レシチンによるリポソームでも80%以上が還元型で維持されていた。しかし、保存60日後においては、レシノールS10では還元型補酵素

Q₁₀が90%以上残存していたが、レシノールS10EXでは約35%が、卵黄レシチンでは約55%が酸化を受けていた(図2)。

40℃の加温条件では、卵黄レシチンは21日後に殆どが酸化を受けた。また、レシノールS10では保存2週間後には約半分に低下し、30日後には還元型補
5 酵素Q₁₀の残存量は約20%であった。レシノールS10EXを用いたリポソームでは、30日後でも約70%が還元型として残存していた(図3)。

以上の結果、卵黄レシチンに比較して、精製大豆レシチンであるレシノールが還元型補酵素Q₁₀リポソームの基剤としてより適している事が明らかになった。精製大豆レシチンの中でも、ホスファチジルコリン含量が高いレシノールS
10 10EXが40℃でより安定であったが、25℃では、レシノールS10がより有用性が高く、用いる製品の保存条件により、これらの精製大豆レシチンを使い分けることでより安定な保存期間を得ることが出来る。また、長期保存が必要な用途では、精製大豆レシチン、特にホスファチジルコリン含量が高いものが基剤
15 として優れているが、短期的な保存でよい場合には、卵黄レシチンでリポソームを作製することも可能である。

(実施例2) 還元型補酵素Q₁₀の界面活性剤による可溶化溶液の安定性

還元型補酵素Q₁₀の界面活性剤による溶液を以下の方法にて作製し、保存下での酸化安定性を評価した。界面活性剤として、ポリソルベート80(Tween 80)あるいはポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(HCO60)を用い、それ
20 ぞれの1重量%あるいは0.1重量%水溶液を作製した。これらの溶液に還元型補酵素Q₁₀を終濃度0.05重量%になるように加えて溶液とした。この溶液の23℃、空气中保存での還元型補酵素Q₁₀の酸化安定性に対する界面活性剤濃度の影響を図4に示した。値はn=2の平均値である。還元型補酵素Q₁₀の
25 酸化安定性は、界面活性剤の濃度に強く影響され、低濃度で作製した溶液がより安定性が高いことが明らかになった。本試験の結果、界面活性剤濃度が0.1重量%であれば、還元型補酵素Q₁₀は、23℃保存で約1ヶ月は安定に保存できることが判った。しかし、界面活性剤濃度が1重量%であった場合には、1週間は安定に保存できたが、その後、急速に酸化を受けることが判った。従って、界

面活性剤で溶液あるいは乳化液を作製する場合は、使用する界面活性剤の濃度を低くすることで、より保存期間の長い溶液が作製できる。1重量%以上の界面活性剤での溶液あるいは乳化液は、用事調製、短期間の保存、あるいは完全な嫌気条件での密閉などの条件を課することにより利用することができる。

5

(調製例1) 注射剤

	精製大豆レシチン	0.3重量%
	エタノール	6.5重量%
	マクロゴール400	5.0重量%
10	ソルビトール	4.5重量%
	還元型補酵素Q ₁₀	0.1重量%
	注射用蒸留水	100.0重量%に

(調製例2) 乳化液

15	Tween 80	1.0重量%
	グリセリン	12.5重量%
	ホスファチジルコリン	1.2重量%
	還元型補酵素Q ₁₀	0.1重量%
	精製水	100.0重量%に

20

(調製例3) 化粧水

	精製大豆レシチン	0.2重量%
	スクワラン	0.1重量%
	エタノール	14.0重量%
25	グリセリン	4.0重量%
	還元型補酵素Q ₁₀	0.1重量%
	精製水	100.0重量%に

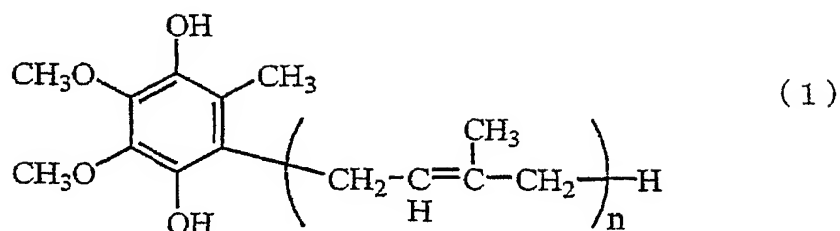
産業上の利用可能性

本発明により抗酸化物質あるいは栄養補助成分として有用性の高い還元型補酵素Qを、種々の用途に広く応用できる液剤の形態で供給できる。

請求の範囲

1. 下記式 (1) ;

5



10 (式中、 n は 1 ～ 12 の整数を表す) で表される還元型補酵素 Q を含有する補酵素 Q の溶液であって、補酵素 Q をリポソームで被覆するか、又は、界面活性剤により可溶化若しくは乳化することによって還元型補酵素 Q を酸化に対して安定に維持することを特徴とする補酵素 Q の溶液。

15 2. 還元型補酵素 Q を補酵素 Q 全量の 20 重量%以上含有する請求の範囲第 1 項記載の溶液。

3. 還元型補酵素 Q を補酵素 Q 全量の 40 重量%以上含有する請求の範囲第 1 項記載の溶液。

20

4. 補酵素 Q の濃度が 0.0001 ～ 50 重量%である請求の範囲第 1 項記載の溶液。

5. 補酵素 Q が補酵素 Q₁₀ である請求の範囲第 1 項記載の溶液。

25

6. 補酵素 Q がリポソームで被覆された請求の範囲第 1 ～ 5 項のいずれかに記載の溶液。

7. リポソームがリン脂質及び／又は糖脂質を用いて調製されたものである請

求の範囲第6項記載の溶液。

8. リン脂質がホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホ
スファチジルセリン、スフィンゴミエリン、ジセチルリン酸、ステアリルアミン、
5 ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジリノシトール
アミン、カルジオリピン、セラミドホスホリルエタノールアミン、セラミドホス
ホリルグリセロール、または、これらの混合物である請求の範囲第7項記載の溶
液。

10 9. リン脂質が精製大豆レシチンまたは卵黄レシチンである請求の範囲第7項
記載の溶液。

10. 糖脂質が、ジガラクトシルジグリセリド、ガラクトシルジグリセリド硫
酸エステル、ガラクトシルセラミド、ガラクトシルセラミド硫酸エステル、ラク
15 トシルセラミド、ガングリオシドG7、ガングリオシドG6、ガングリオシドG
4、ジガラクトシルセラミド、または、これらの混合物である請求の範囲第7項
記載の溶液。

20 11. リポソーム膜の構成成分としてステロールを含む請求の範囲第6項記載
の溶液。

12. 界面活性剤を用いて補酵素Qが可溶化もしくは乳化された請求の範囲第
1～5項のいずれかに記載の溶液。

25 13. 界面活性剤が、カルボン酸塩型アニオン界面活性剤、スルホン酸塩型ア
ニオン界面活性剤、硫酸エステル塩型アニオン界面活性剤、リン酸エステル塩型
アニオン界面活性剤、アミン塩型カチオン界面活性剤、四級アンモニウム塩型カ
チオン界面活性剤、アミノカルボン酸塩型両性界面活性剤、カルボキシベタイン
型両性界面活性剤、硫酸エステル型両性界面活性剤、スルホン酸型両性界面活性

剤、エーテル型非イオン界面活性剤、エーテルエステル型非イオン界面活性剤、エステル型非イオン界面活性剤、ブロックポリマー型非イオン界面活性剤、含窒素非イオン界面活性剤、天然界面活性剤、タンパク質加水分解物の誘導体である界面活性剤、高分子界面活性剤、チタン及びケイ素を含む界面活性剤、並びに、

5 フッ化炭素系界面活性剤からなる群より選択される少なくとも1つである請求の範囲第12項記載の溶液。

14. 界面活性剤がポリソルベートまたはポリオキシエチレン硬化ヒマシ油である請求の範囲第13項記載の溶液。

10

15. 界面活性剤の濃度が1重量%未満である請求の範囲第13項記載の溶液。

16. 界面活性剤の濃度が1～20重量%である請求の範囲第13項記載の溶液。

15

17. 医療品、食品、食品用組成物、飲料、肥料、化粧品、飼料または抗酸化剤に用いられる請求の範囲第1～16項のいずれかに記載の溶液。

20

18. 注射剤、補液、液剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、経口剤、皮膚用剤、頭皮用剤または保存溶液に用いられる請求の範囲第1～16項のいずれかに記載の溶液。

19. 還元型補酵素Qをリン脂質及び／又は糖脂質から調製されるリポソームで被覆することを特徴とする、還元型補酵素Qの安定化方法。

25

20. リン脂質が精製大豆レシチンである請求の範囲第19項記載の方法。

1 / 2

図 1

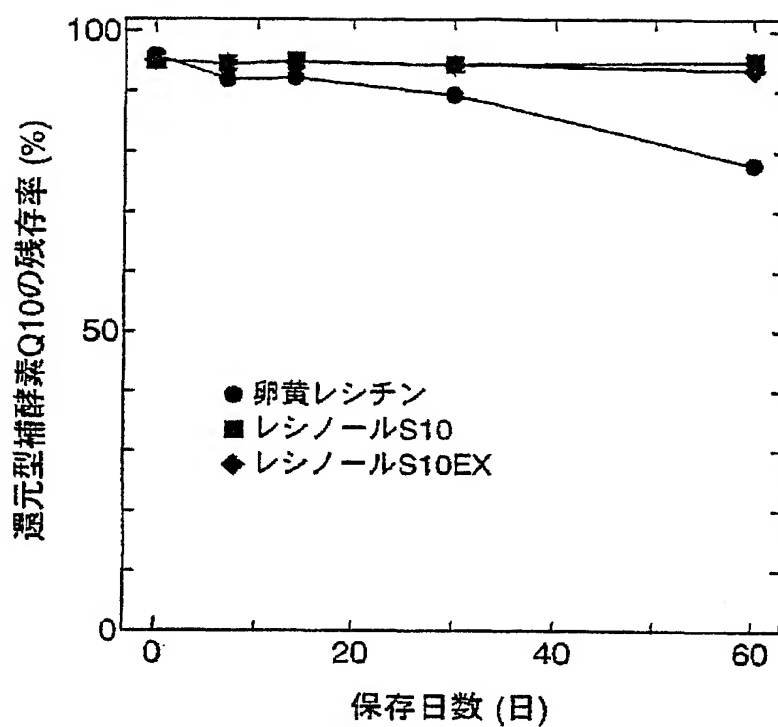


図 2

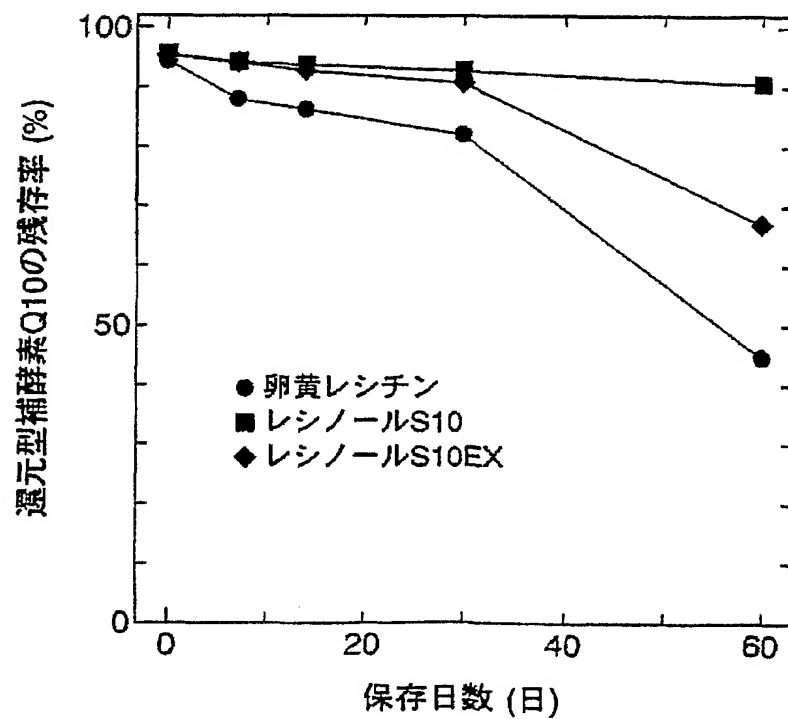


図 3

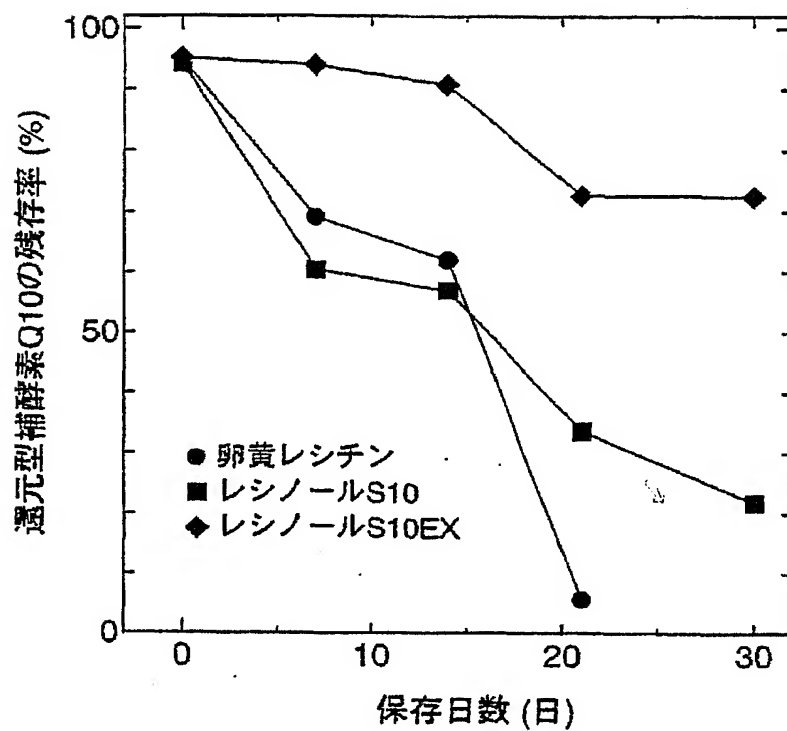
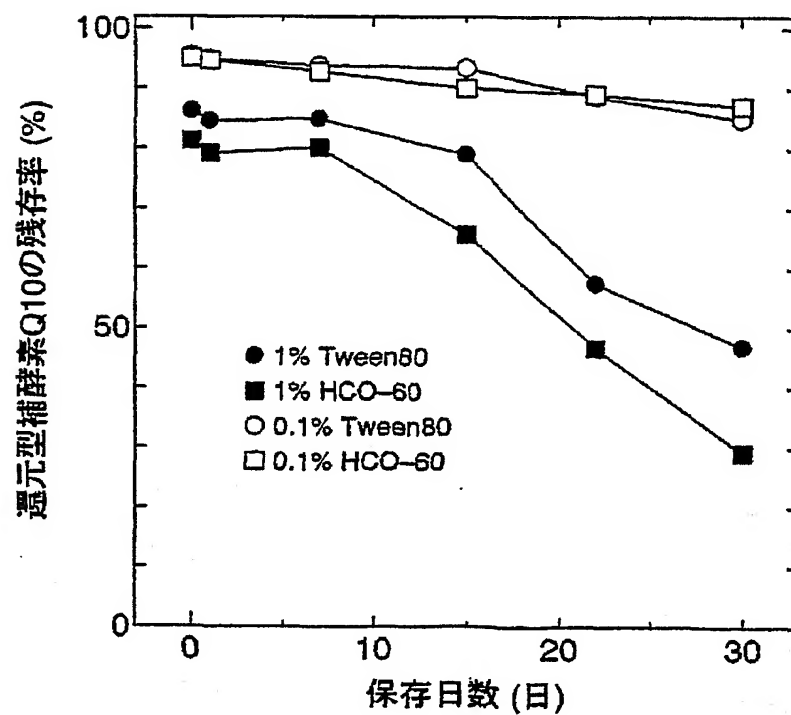


図 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/04516

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07C41/46, 43/23, 50/28, 46/10, A61K31/09, 9/107, A61K9/127,
47/06, 47/24, 47/26, 47/44, A23K1/16, A23L1/30, 2/52,
A61P3/02, 9/10, 39/06, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07C41/46, 43/23, 50/28, 46/10, A61K31/09, 9/107, A61K9/127,
47/06, 47/24, 47/26, 47/44, A23K1/16, A23L1/30, 2/52,
A61P3/02, 9/10, 39/06, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 98/7417 A1 (Kaneka Corp.), 26 February, 1998 (26.02.98), Claims & JP 10-109933 A & EP 956854 A1 & US 6184255 B1	1-20
Y A	EP 69399 A2 (Eisai Co., Ltd.), 12 January, 1983 (12.01.83), Claims & JP 58-8010 A	1-11, 17-20 12-16
Y A	WO 94/18948 A1 (The Green Cross Corp.), 01 September, 1994 (01.09.94), Claims; page 2, line 24 to page 3, line 9 & JP 6-247842 A & EP 688563 A1	1-11, 17-20 12-16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 August, 2002 (05.08.02)

Date of mailing of the international search report
03 September, 2002 (03.09.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/04516

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 59-161314 A (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.), 12 September, 1984 (12.09.84), Claims (Family: none)	12-16 1-11,17-20
Y A	JP 53-56315 A (Eisai Co., Ltd.), 22 May, 1978 (22.05.78), Claims (Family: none)	12-16 1-11,17-20
Y A	GB 2184355 A (Seuref A.G.), 24 June, 1987 (24.06.87), Claims & JP 62-158209 A & FR 2598320 A1 & DE 3643330 A1	12-16 1-11,17-20
Y A	EP 522433 A1 (IdB Holding S.p.A.), 13 January, 1993 (13.01.93), Claims & JP 5-186340 A & FR 2678836 A1	12-16 1-11,17-20

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ C07C41/46, 43/23, 50/28, 46/10, A61K31/09, 9/107, A61K9/127, 47/06, 47/24, 47/26, 47/44, A23K1/16, A23L1/30, 2/52, A61P3/02, 9/10, 39/06, 43/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ C07C41/46, 43/23, 50/28, 46/10, A61K31/09, 9/107, A61K9/127, 47/06, 47/24, 47/26, 47/44, A23K1/16, A23L1/30, 2/52, A61P3/02, 9/10, 39/06, 43/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA (STN), REGISTRY (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 98/7417 A1 (鐘淵化学工業株式会社), 1998.02.26, 請求の範囲 & JP 10-109933 A & EP 956854 A1 & US 6184255 B1	1-20
Y A	EP 69399 A2 (Eisai Co., Ltd.), 1983.01.12, Claims & JP 58-8010 A	1-11, 17-20 12-16
Y A	WO 94/18948 A1 (株式会社 ミドリ十字), 1994.09.01, 請求の範囲, 第2頁第24行-第3頁第9行 & JP 6-247842 A & EP 688563 A1	1-11, 17-20 12-16
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 05.08.02	国際調査報告の発送日 03.09.02	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 松本 直子	4H 9546
電話番号 03-3581-1101 内線 3443		

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	JP 59-161314 A(大鵬薬品工業株式会社), 1984. 09. 12, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	12-16 1-11, 17-20
Y A	JP 53-56315 A(エーザイ株式会社), 1978. 05. 22, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	12-16 1-11, 17-20
Y A	GB 2184355 A(Seuref A. G.), 1987. 06. 24, Claims & JP 62-158209 A & FR 2598320 A1 & DE 3643330 A1	12-16 1-11, 17-20
Y A	EP 522433 A1(IdB Holding S.p.A.), 1993. 01. 13, Claims & JP 5-186340 A & FR 2678836 A1	12-16 1-11, 17-20

様式PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (1998年7月)